

ワサビダイコンの繁殖に関する研究(1)

高橋敏秋・永井正幸*・藤原 一**・大堀泰樹

信州大学農学部 蔬菜・花卉園芸学研究室

緒 論

ワサビダイコンは、アブラナ科の多年性草本であるが、栽培では1年性として取り扱っている。北歐フィンランド一帯の原産であり、栽培植物としては歴史の比較的新しいものである。並河⁴⁾の記録によると、最初にドイツで食用として用いられ、ついで、イギリスでは薬用として用いられた。今日では欧米に広く普及しているが、わが国には明治のはじめに開拓使により導入され、以来栽培規模も小さく、全国的な普及はされていない。冷涼な北歐が原産地のために、わが国では、北海道や長野県などの冷涼地帯が主産地となっている。

ワサビダイコンは根部に辛味と香りを持ち、粉ワサビの原料として利用される他、調味料としても利用されている。深根性作物のため、耕土が深くて保水性及び排水性のよい土壌が適している。栽培歴史が新しいため、品種の分化がほとんどなく、わが国で栽培されているものでは、青芽系と赤芽系に区別されている。

繁殖には種根を用いて栄養繁殖で行う。種子をつけることがまれなので、種子繁殖することはほとんどないが、最近の筆者らの研究により新しい知見が得られている。しかしながら近年、ワサビダイコンはウイルス病の被害が甚だしく、健全な株はほとんどないと云われている。そこで、本研究はワサビダイコンの繁殖法として、茎頂培養を行い、繁殖に適合する生長調整物質及び培地濃度の検討を行った。

材料及び方法

実験は1984年10月から1985年2月にわたり行った。供試材料として、長野県内で一般的に栽培される赤芽系のワサビダイコンを伊那市西箕輪地区より採取した。

培養基は、表1に示した Murashige & Skoog (1962)³⁾の組成を基本として、これにサツカロース30g/l、寒天6g/lを加えたものを共通培地(以下MS培地と略す)とした。生長調整物質としては、 α -naphthaleneacetic acid(以下NAAと略す)及び6-benzyladenine(以下BAと略す)を使用した。培地は、0.5Nの苛性ソーダまたは0.1Nの塩酸でpH 6.0に調整し、試験管に20mlずつ分注した後、加圧殺菌を行った。

供試材料は図1に示すように、草丈15~20cmのワサビダイコンを水洗後、茎頂部が5~

* 伊那水耕プラント研究所

** 長野県農業改良普及員

1985年9月30日受付

表1 MS培地の組成

Inorganic substances (mg/l)		Organic substances (mg/l)	
NH_4NO_3	1650	Inositol	100
KNO_3	1900	Pyridoxine HCl	0.5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	Thiamine HCl	0.1
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	Nicotinic acid	0.5
KH_2PO_4	170	Glycine	2.0
Na_2EDTA	37.3		
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8		
H_3BO_3	6.2		
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3		
$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	8.6		
KI	0.83		
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25		
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025		
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025		

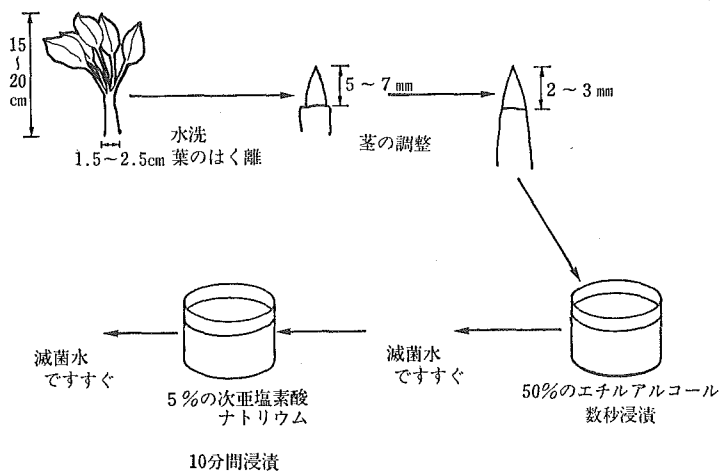


図1 ワサビダイコン茎頂の調整法

7 mm ぐらいまで葉を除去して、茎を 5 mm 程度の長さに切断した。ついで、表面殺菌として 50% エチルアルコールに数秒浸漬し、滅菌水で洗った後、5% 次亜塩素酸ナトリウムに 10 分間浸漬した。

茎頂はメスで厚さ 0.5~1 mm に分離した後、上述の試験管培地に置床した。培養は $24^\circ \pm 1^\circ \text{C}$ 、照度 2000 ルックスの 24 時間日長の恒温室内で、鉢上げまでの期間行った。

生長調整物質添加濃度の検討には、MS 培地の濃度を 1/2 にした培地を使用した。NAA 及び BA の濃度を表 2 に示すようにそれぞれ 0、0.1 及び 0.5 ppm に設定して表示法をも併せ

て示した。1区15本を供試して、合計135本培養した。1984年10月6日に置床し、30日後から1週間間隔で幼条長、最大葉長、葉数、根数、最大根長及びカルスの大きさと色について測定した。なお、試験管内で生育の順調なものは次年度の研究のために鉢上げを行った。

培地濃度の検討は表3に示したように、MS培地を1として、その1/2倍及び1/4倍に設定し、これにNAA及びBAの濃度をそれぞれ0.1及び0.5ppmにして、これらを組み合わせて12区を作り、1区15本で合計180本培養した。1984年10月25日に置床し、調査は前項と同様で、置床後20日から1週間間隔で行った。

結 果

生長調整物質添加濃度による、ワサビダイコン茎頂の培養結果は図2に示す通りである。生存率は各処理区ともに60~80%の間で、明らかな区間差は認められなかった。発根率及び発根数については、図3及び4に示した通りである。発根率及び根数ともにNAA濃度に関係なく、BA濃度が低くなるにしたがって多くなる傾向が認められた。とくに、発根率ではNAA:0.1ppmとBA:0ppm区、NAA:0.5ppmとBA:0ppm区が高くなった。逆に、NAA及びBAともに0.5ppm区は発根率20%となり、他の処理区に比べて悪くなった。根数ではNAA:0.1ppmとBA:0ppm区及びNAA及びBAともに0.1ppm区は他の処理区に比べて多く、置床後48日頃からは鉢上げが可能となった。逆にBA0.5ppmを添加した処理区では、カルスから直径2mm程度の太い根が僅か発生するのみで、他の処理区に比べて、極端に少なかった。

幼条及び根の伸長は図5及び6に示す通りである。幼条及び根の伸長についても発根率

表2 生長調整物質の濃度と表示法

NAA (ppm)	BA		
	0 (ppm)	0.1	0.5
0	0\0	0\0.1	0\0.5
0.1	0.1\0	0.1\0.1	0.1\0.5
0.5	0.5\0	0.5\0.1	0.5\0.5

表3 培地の濃度とNAA及びBAとの関係

培地	NAAppm	BAppm	試験区の表示法
1	0.1	0.1	1-1-1
	0.1	0.5	1-1-5
	0.5	0.1	1-5-1
	0.5	0.5	1-5-5
1/2	0.1	0.1	2-1-1
	0.1	0.5	2-1-5
	0.5	0.1	2-5-1
	0.5	0.5	2-5-5
1/4	0.1	0.1	4-1-1
	0.1	0.5	4-1-5
	0.5	0.1	4-5-1
	0.5	0.5	4-5-5

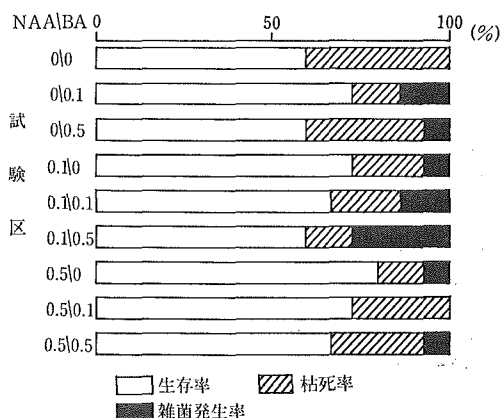


図2 生長調整物質の濃度の組み合わせがワサビダイコン茎頂の生存率、枯死率及び雑菌発生率に及ぼす影響

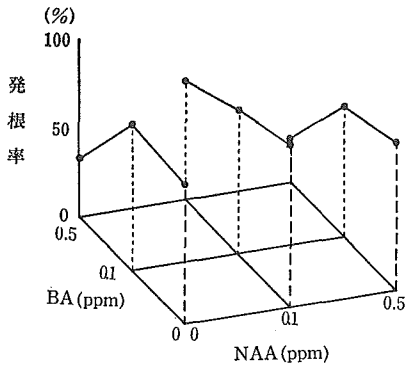


図3 生長調整物質の濃度が発根率に及ぼす影響

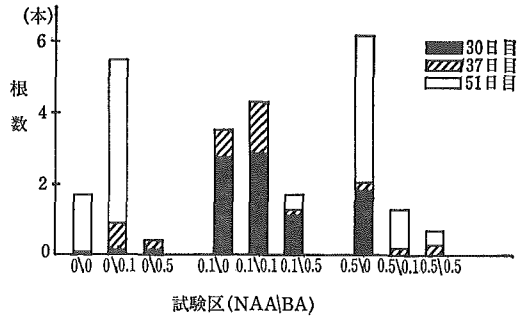


図4 生長調整物質の濃度が根数に及ぼす影響

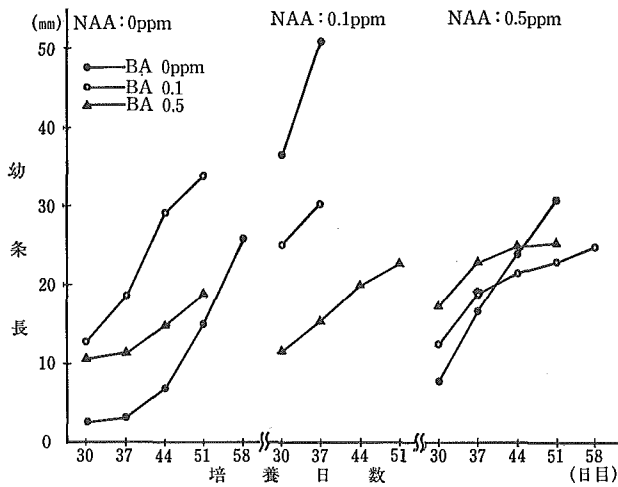


図5 生長調整物質の濃度が幼条長に及ぼす影響

や根数と同様で、NAAの濃度に反応するよりも、BAの濃度の影響が大きく、BA濃度が低くなるにしたがって伸長がよくなる傾向を示している。すなわち、幼条伸長では、BAの無添加区は添加区に比べて伸長が大であり、なかでも、NAA : 0.1ppmとBA : 0ppm区はとくに大であった。逆にBA : 0.5ppm添加区はカルス形成が大となるために幼条伸長が鈍化する傾向が見られた。根の伸長においても同様であり、NAA : 0.1ppmとBA : 0ppm区でとくに著しい伸長がみられた。葉数に対する影響については図7に示す通りである。幼条や根の伸長の傾向とは逆に、BAの添加濃度が高くなるにしたがい、葉数が増加する傾向がみられた。すなわち、NAA濃度0, 0.1及び0.5 ppmのそれぞれについて、BA0.5ppm添加したものは、他に比べて葉数が増加し、その増加割合はBA濃度に比例する傾向がみられた。カルス形成について調査したのが図8である。NAA或はBAの濃度のいずれかが高くなるにつれてカルス形成率が高くなった。とくにNAA : 0.5ppmとBA : 0.5ppmの区では100%の形成率を示した。

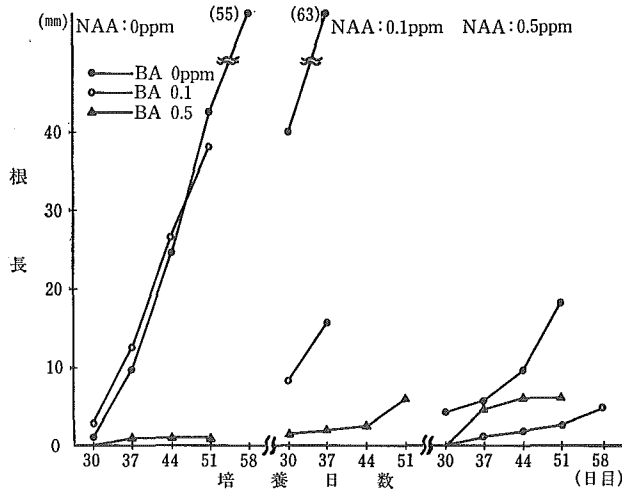


図6 生長調整物質の濃度が根の伸長に及ぼす影響

培地濃度の相違と生長調整物質の濃度との関係について調査したのが表4である。生存個体数は処理区間に差が見られたが、茎頂組織の切り出しのため長時間が必要となり、植物体の状態に差が見られたためと考えられる。生存個体を100としての発根個体率では、MS培地1/2区でのNAA, BAともに0.5ppmを添加した区及び1/4区でのNAA:0.1ppm, BA:0.5ppm添加区以外は比較的良好であった。とくにMS培地1倍区は発根率が高く、生長調整物質の濃度に関係なく、85%以上となった。根数では培地濃度1倍の各区と1/4倍区のNAAとBAをとともに0.1ppmずつ添加した区が多くなったが、鉢上げ可能となったのは1/2倍区でNAA, BAともに0.1ppmを添加したもので、置床後47日後であった。一方、1/4倍区で

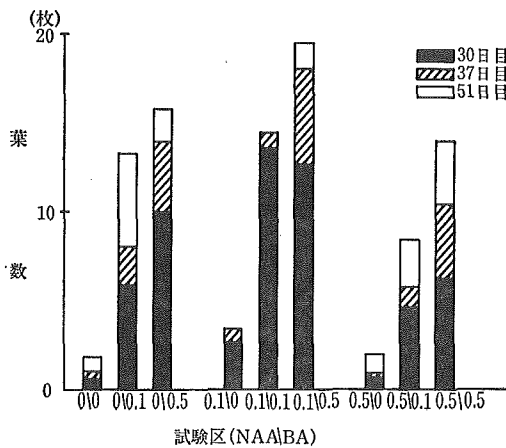


図7 生長調整物質の濃度が葉数に及ぼす影響

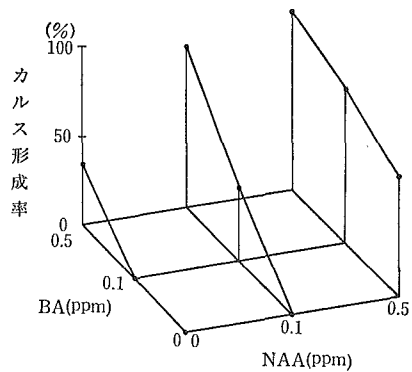


図8 生長調整物質の濃度がカルス形成率に及ぼす影響

表4 MS培地の濃度及び生長調整物質の濃度の相違がワサビダイコン
茎頂の器官形成に及ぼす影響

MS培地濃度	生長調整物質 ppm		培養 個体数	生存 個体数	同比%	発根 個体数	同比% (対生存)	カルス形 成個体数	葉 数*	根 数*
	NAA	BA								
1	0.1	0.1	15	15	100	15	100	2	19.7	14.6
	0.1	0.5	15	15	100	15	100	15	20.0	4.5
	0.5	0.1	15	14	93	14	100	9	18.9	9.3
	0.5	0.5	15	14	93	12	86	14	20.0	3.9
1/2	0.1	0.1	15	11	73	9	82	0	12.3	4.9
	0.1	0.5	15	11	73	9	82	10	18.9	4.4
	0.5	0.1	15	12	80	10	83	11	14.4	2.4
	0.5	0.5	15	8	53	3	38	8	17.0	1.1
1/4	0.1	0.1	15	15	100	15	100	6	14.4	5.2
	0.1	0.5	15	10	67	1	10	1	13.5	0.1
	0.5	0.1	15	13	87	10	77	6	10.2	2.5
	0.5	0.5	15	12	80	8	67	10	12.4	1.8

* 置床後69日

NAA : 0.1ppm, BA : 0.5ppm を添加したものは、置床後62日で発根したが、極端に貧弱であった。カルスの形成は1/2倍区のNAA, BAともに0.1 ppm を添加した区以外で認めら

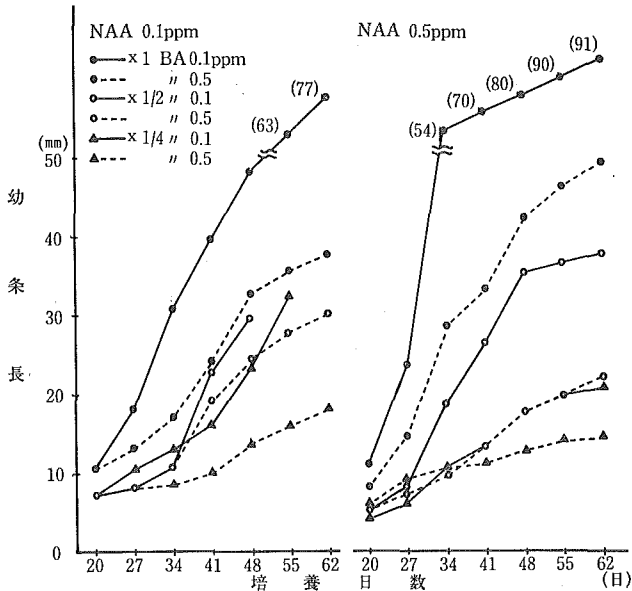


図9 培地の濃度及び生長調整物質の濃度が幼条長に及ぼす影響

* ×1, ×1/2, ×1/4 は培地の濃度

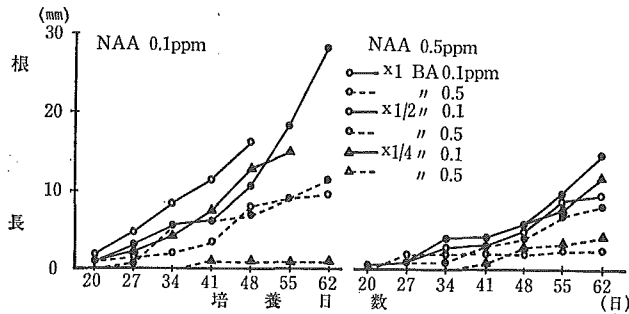


図10 培地の濃度及び生長調整物質の濃度が根の伸長に及ぼす影響
* × 1, × 1/2, 1/4 は培地の濃度

れた。なかでも1倍区のNAA: 0.1ppm, BA: 0.5ppm区, NAA, BAともに0.5ppm区ならびに1/2倍区のNAA, BAともに0.5ppm区の3処理区では全個体にカルス形成がみられた。1/4培地で形成されたカルスの形態及び色とも他区と異なり、幼条の基部に集合することなく分散するようになった。すなわち、1及び1/2倍区のカルスの色は緑白または緑色をおびているが、1/4倍区ではベージュ色であった。葉数は培地濃度1倍区が比較的多くなり、かつ1倍区は幼条数が非常に多く、1幼条に対する葉数では1倍区内の区間差はみとめられなかった。幼条及び根の伸長は図9及び10に示す通りである。幼条の伸長はMS培地1倍区のNAA, BAともに0.1ppm区ならびにNAA: 0.5ppmとBA: 0.1ppmを添加した両区の伸長がとくに著しかった。1倍区は全般的に幼条の伸長は良好であったが、逆に1/4倍区は伸長が抑えられ、なかでもBA: 0.5ppm添加区の伸長が悪かった、根の伸長も幼条の伸長と同様な傾向がみられたが、幼条ほど顕著ではなかった。

考 察

ワサビダイコンは、わが国では粉ワサビにして香辛料蔬菜として用いられているが、水ワサビの補完作物と考えられている。したがって、ワサビダイコンの需要は水ワサビの消費の動向に左右されており、作付面積、収穫量も毎年減少傾向にある。それ故、わが国におけるワサビダイコンの研究報告は非常に少なく、ワサビダイコンの生理生態についてはほとんど解明されていない。わずかにウイルスに関する研究がみられる。諸外国においても研究例が少なく、Bailey¹⁾らの記録を参考にしている。本研究は、現在、最も問題とされているウイルス病を防止するために、茎頂培養の手法を用いて健全株を育成する目的で行ったものである。まず培地の決定と、これに添加する生長調整物質の濃度ならびに培地の濃度がワサビダイコンの茎頂に及ぼす影響を与えるかを調査したものである。

まず、用いたMS培地は森ら²⁾がウイルスフリーを作出するためにワサビダイコンの培養に使用した農事試験場培地と比較して、無機塩類濃度が非常に高くなっている。しかし、MS培地は現在組織培養において最も一般的に使用されているもので、本研究でもこれを基本培地として使用し、かつ培地の濃度についても検討を加えたものである。

生長調整物質として利用したNAA及びBAはともに活発な生理作用を行うもので、前者

は細胞伸長、発根促進、脱分化等々の作用があり、後者は細胞分裂と肥大の促進、非分化組織の分化促進等々の効果を持っている。しかし、組織培養におけるこれら生長調整物質の作用は植物の種類によって同じではなく、オーキシンとサイトカイニンの相互作用について、不定器官分化を制約しているという Skoog⁵⁾ らの報告に帰着する。

本研究に使用したワサビダイコンの生存率は森²⁾らと比較してみると高くなっている。これは直接圃場から採取して使用した本研究のワサビダイコンの鮮度が高かったと考えられる。ついで、生長調整物質と幼条の生育との関係では、最適濃度を判定することは困難であるが NAAでは0.1~0.5ppmの間、BAは0~0.1ppmにあると推測される。本研究は茎頂から直接に植物体を作成することを主眼としたので、カルスからの分化による方法は次の研究にゆだねることとした。しかし、ワサビダイコンではNAA或はBAの添加濃度を高くすると容易にカルス形成をうながすことが判明した。カルスを再分化させることが可能となれば、ワサビダイコンの大量増殖も可能であると考えられるが、今後の課題として検討する必要がある。葉数は幼条の生長とは逆で、BA濃度が高くなると増加するが、これは幼条数の増加によって葉数が多くなったと考えられる。MS培地濃度は、明らかに基本培地が良好であった。これは含有する栄養量が1/2及び1/4倍に比べて多いことによるが、幼条の色は濃緑色を呈し、栄養過多と思われるが、一方1/4では栄養不足と考えられるので、培地の最適濃度は1~1/2倍の間にあると考えられる。根部の生長も幼条や葉と同じであり、BA濃度が低くなると発根率、根数ともよくなるので、BAは抑制的に働くと考えられる。

本研究において鉢上げされた個体はパーミキュライトで育苗され、1985年5月栽培圃場に定植したが、上原⁶⁾らの調査したウイルスには感染していなかった。

摘 要

ワサビダイコンのウイルス病汚染防止のための繁殖法として、茎頂培養を行い、生長調整物質濃度と培地濃度が茎頂に及ぼす影響について研究を行った。結果は以下の通りである。

NAA濃度に関係なく、BA濃度が低くなると、幼条部及び根部の生育が良好になった。培地濃度はMS基準培地が生育が良好であったが、最適濃度は1倍~1/2倍の間と考えられる。NAA或はBAの何れか一方の濃度が高くなるとカルス形成をするが、カルス形成した個体の幼条及び根の生育は悪かった。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、株式会社マルイには材料の調達等多大の援助をいただいた。また当研究室の教官、専攻生諸氏からも援助をいただいた。厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) Bailey, L. H. 1930. The standard cyclopedia of horticulture. II : 1500~1501, III : 2895-2896. Mac Millan Book C.
- 2) 森 寛一, 浜屋悦次, 下村 徹, 池上雍春. 1969. 組織培養法によるウイルス罹病植物の無毒化。農業試験場報告13号 : 45-110.
- 3) Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultuses. *Physiol. plant.* 15 : 473-497.
- 4) 並河 功. 1952. 蔬菜種類編 58-59. 養賢堂
- 5) Skoog, F. and C. O. Miller, 1969. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symposia of society for experimental biology.* 118-131.
- 6) 上原武茂, 鈴木喜造, 早河広美. 1966. ハクサイのカブモザイクウイルス 伝染源としてのワサビダイコンのカブモザイクウイルス。関東東山病害虫研究会年報第13集 : 48.

**Studies on the Propagation of Horse-radish (*Cochlearia
Armoracia* Linn.) (Part 1)**

**By Toshiaki TAKAHASHI, Masayuki NAGAI, Hagime
FUGIWARA and Taiki OOBORI**

Laboratory of olericulture and floriculture, Fac. Agric., Shinshu Univ.

Summary

The studies were carried out to ascertain the influence of virus free using the shoot apex culture of horse-radish. As plant growth regulators NAA and BA were used, and as culture medium MS medium are used. The results were as follows: Without regard to NAA concentration, when BA concentration was lower, growth of young plant and root development were better. Culture medium of MS was good medium but optimum concentration of it's medium exist between standard and half concentration. Callus formation of shoot apex of horse-radish was made with high concentration of NAA or BA, respectively.